

生物钟基因在胶质瘤中的作用研究进展

安亚文 刘汉清 综述 袁 波 王建春 李炜昕 王 诚 审校

【关键词】脑胶质瘤;生物钟基因;CRY 基因;CLOCK 基因
【文章编号】1009-153X(2020)01-0051-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

生物钟可调控人类生活的各个方面,包括睡眠、警觉、运动、维持体温、激素分泌、免疫调节等^[1]。生物钟基因可控制生物节律,使细胞分裂、增殖等活动呈现有序性、协同性和周期性。昼夜节律紊乱是某些癌症的已知风险因素,可影响肿瘤的发生和发展^[2]。流行病学调查发现,夜班工作或其他夜晚暴露在光线下的工作所引起的生物钟紊乱,与激素依赖的癌症相关^[3]。临床证据表明生物钟基因启动子的甲基化或单核苷酸多态性与乳腺癌^[4]、前列腺癌^[5]、肺癌^[6]、结肠癌^[7]等肿瘤相关。胶质瘤是最常见的颅内肿瘤,发病机制尚不明确^[8],目前治疗手段有手术^[9]和放化疗等^[10]。由于脑胶质瘤呈浸润性生长,手术难以完全切除且极易复发。同时,胶质瘤极易产生放疗抵抗和化疗耐药,使放化疗效果大打折扣。临床研究发现替莫唑胺对胶质瘤的有效治疗率不足 45%^[11]。近期研究发现,胶质母细胞瘤干细胞的自我更新能力依赖于生物钟基因,而靶向沉默生物钟基因脑和肌肉芳烃受体核转录因子样蛋白-1 基因(brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1, BMAL1)、昼夜运动输出周期基因(circadian locomotor output cycles kaput, CLOCK)表达,可有效抑制胶质母细胞瘤干细胞增殖,延长荷瘤小鼠的生存期^[12]。这一发现提示生物钟基因在胶质瘤的发生、发展中具有重要作用。本文就生物钟基因表达及功能在胶质瘤中的作用研究进展综述如下。

1 生物钟基因在脑胶质瘤中的表达

目前,已发现的生物钟基因已有十余种,如

BMAL1、CLOCK、Period 基因家族(Per1、Per2、Per3)、隐花色素抑制因子基因(cryptochrome, Cry)1、Cry2、Timeless 基因、酪蛋白激酶 I 基因(casein kinase 1, CK1)、神经 PAS 域蛋白基因(neuronal PAS domain protein 2, NPAS2)等。生物钟基因具有正负反馈循环回路,构成内源性的生物节律表现为近日的 24 h 周期,并通过神经体液调节生理和行为来适应环境,维持生物的新陈代谢和生长发育^[13]。根据 TCGA 数据库显示,Per1、Cry1、BMAL1、CLOCK 等多个生物钟基因在胶质母细胞瘤组织和正常脑组织的表达存在差异,部分生物钟基因与疗效不佳显著相关。

1.1 胶质瘤 Per1、Per2 基因表达 1971 年, Konopka 和 Benzer 在黑腹果蝇中发现第一个生物钟基因,并将之命名为 Period(Per),有三个成员,即 Per1/2/3。它们是昼夜节律的重要组成部分,与运动、新陈代谢和行为有关。Per 多态性可能与某些癌症发病风险增加有关,例如 Per1 突变与神经胶质瘤的发生风险显著相关^[14]。Per2 是 p53 信号通路的重要上游分子,在调节细胞增殖、凋亡和生物周期等方面有重要作用。

Per1、Per2 在胶质瘤和瘤旁组织的表达存在显著差异。夏鹤春等^[15]发现 Per1、Per2 在胶质瘤组织的表达水平低于瘤旁组织,认为其低表达可能是脑胶质瘤发生的重要危险因素。牛占峰等^[16]进一步证实 Per1 低表达与胶质瘤的恶性程度呈正相关。有文献报道 Per2 在小鼠体内发挥着肿瘤抑制因子的作用,对 DNA 损伤也具有一定修复作用^[17]。另外,胶质瘤病人预后不佳与 Per 的低表达有关^[18]。因此,Per 基因对胶质瘤的诊断、预后评估均有一定的价值。

1.2 胶质瘤 Cry 基因表达 Cry 基因编码黄酮类腺嘌呤二核苷酸结合蛋白,是调节昼夜节律的关键分子。Cry1 和 Cry2 低表达会导致对正常昼夜节律控制的中断,从而促进胶质瘤的发生。有研究显示,Cry1 和 Cry2 在胶质瘤组织中的表达水平与瘤旁组织有显著差异,高级别胶质瘤 Cry 表达水平较低级别胶质瘤

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2020.01.019
基金项目:深圳科技创新委员会基金(JCYJ20180302153611416)
作者单位:518118 广东,深圳市萨米医疗中心神经外科(安亚文、刘汉清、袁 波、王建春、李炜昕、王 诚)
通讯作者:王 诚,E-mail:wangcheng@ssmc-sz.com

降低^[19],因此,Cry 低表达胶质瘤病人可能预后差。

CRY 蛋白稳定剂可能是一种新的胶质瘤的治疗药物^[20]。KL001 是一种咪唑类小分子化合物,可特异性地与 CRY 相互作用来稳定 CRY1 和 CRY2 蛋白,其机制是通过结合到辅因子黄素腺嘌呤二核苷酸口袋,减少 CRY 蛋白结合到 F-框亮氨酸丰富重复蛋白 3 泛素连接酶,从而阻止泛素依赖的 CRY 蛋白降解过程^[21]。研究发现,KL001 及其衍生物具有抑制胶质瘤干细胞增殖的功能,CRY 的小分子稳定剂可以减少胶质瘤细胞的生长^[12]。此外,有研究发现氟哌啶醇可使胶质母细胞瘤 Cry1 表达升高,具有治疗胶质瘤的潜力^[22]。因此,Cry 不仅可以作为胶质瘤诊断和预后的一项标志物,还可以作为药物开发的靶点,为其治疗提供新的选择。

1.3 胶质瘤 CLOCK 基因表达 CLOCK 基因编码的蛋白质在调节昼夜节律中起中心作用。CLOCK 蛋白是碱性-螺旋-环-螺旋家族的转录因子,具有组蛋白乙酰转移酶活性。CLOCK 突变可增加少突神经胶质瘤的发病风险并促进神经胶质瘤细胞的增殖和迁移,在细胞凋亡、DNA 损伤等过程具有重要作用。高级别胶质瘤组织 CLOCK 的表达高于瘤旁组织^[23],也显著高于低级别胶质瘤^[24]。沉默 U-87 MG 胶质瘤细胞 CLOCK 的表达,上调 p53 表达,下调 c-Myc、Cyclin B1 表达,导致细胞凋亡和细胞周期阻滞^[25],抑制细胞的增殖、存活和迁移^[26]。因此,CLOCK 基因的表达水平可作为胶质瘤诊断及预后评估的指标,并且降低 CLOCK 表达有望成为胶质瘤的治疗选择。

1.4 胶质瘤 BMAL1 表达 BMAL1 是哺乳动物生物钟反馈抑制回路成员。CLOCK 与 BMAL1 以异二聚体形式结合在 E-box 元件,激活 Per1、Per2、Cry1 和 Cyr2 等,CRY、PER 蛋白在细胞质被翻译,然后磷酸化并形成异质二聚体后返回细胞核,抑制核内 CLOCK-BMAL1 异二聚体的活性,这种负反馈回路使得 CRY 和 PER 蛋白可以调节自身的转录^[27]。

干预生物钟基因可有效抑制胶质瘤的发展。胶质母细胞瘤干细胞对 BMAL1 具有显著的依赖性,下调 BMAL1 表达促进胶质母细胞瘤干细胞凋亡和细胞周期阻滞^[12]。但也有研究显示 BMAL1 表达下调可促进肿瘤侵袭^[28]。因此,BMAL1 在胶质瘤中的作用及机制还需要更多的研究来阐明。

2 靶向调控生物钟基因为胶质瘤治疗提供新的方案

2.1 靶向调控生物钟基因治疗胶质瘤的前景与展望

随着基因测序技术的成熟以及胶质瘤临床试验的

开展,以分子分型为基础的靶向个体化治疗逐渐得到认可^[29]。靶向疗法已经成为胶质瘤研究领域的热点。目前,靶向生物钟基因的精准治疗研究已经取得一定进展。2012 年以来,多个生物钟蛋白的晶体结构如 CRY1、PER1/2/3、FBXL3 及 BMAL1:CLOCK 复合物、PER2:CRY1 复合物等均被成功解析,为从原子水平更精确地了解生物钟调控机制打开了新的视角。微观结构的解谜使得在原子水平探究生物钟蛋白多组分复合物相互作用靶点成为可能,并为指导靶向治疗的配体选择提供方案,对胶质瘤生物钟基因表达的研究,为其治疗提供了新的手段,具有广阔的应用前景。

2.2 时间疗法 时间疗法是基于生物钟基因而提出的一种肿瘤新疗法。根据生物钟基因表达规律给药可增强化疗药物的疗效。根据机体、肿瘤、药物代谢三者的生物节律,选择合理用药时间,保持标准剂量治疗基础上,在毒性最低时间提高药物使用剂量,可提高疗效,进而改善病人生存质量和生存率。已有报道发现多种抗癌药物的致死剂量耐受性或疗效随昼夜节律的改变而不同^[30,31]。替莫唑胺是胶质瘤的标准化疗药物,但耐药现象严重限制了其临床应用效果。胶质母细胞瘤 BMAL1 依赖的昼夜节律调节替莫唑胺敏感性,替莫唑胺诱导的 DNA 损伤反应、凋亡激活和生长抑制在 BMAL1 表达的日峰值附近出现。

综上所述,生物钟基因在脑胶质瘤中的表达与瘤旁组织存在显著差异,并且在胶质瘤的诊疗和预后方面有一定的应用价值。胶质瘤组织 Cry、Per 低表达与其恶性程度正相关,并且提示病人的预后不佳。CLOCK、BMAL1 基因在胶质瘤组织中高表达,与其恶性程度成正比。Cry 还可以作为胶质瘤治疗药物开发的新靶点,为其治疗提供新的选择。

【参考文献】

- [1] 安 扬,徐 璿. 哺乳动物昼夜节律机制研究进展[J]. 生命科学,2015,27(11):1372-1379.
- [2] Verlande A, Masri S. Circadian clocks and cancer: time-keeping governs cellular metabolism [J]. Trends Endocrinol Metab, 2019, 30(7): 445-458.
- [3] Masri S, Sassone-Corsi P. The emerging link between cancer, metabolism, and circadian rhythms [J]. Nat Med, 2018, 24(12): 1795-1803.
- [4] Chen ST, Choo KB, Hou MF, *et al.* Deregulated expression

- of the PER1, PER2 and PER3 genes in breast cancers [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(7): 1241-1246.
- [5] Zhu Y, Stevens RG, Hoffman AE, *et al.* Testing the circadian gene hypothesis in prostate cancer: a population-based case-control study [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(24): 9315-9322.
 - [6] Papagiannakopoulos T, Bauer MR, Davidson SM, *et al.* Circadian rhythm disruption promotes lung tumorigenesis [J]. *Cell Metab*, 2016, 24(2):324-331.
 - [7] Mazzocchi G, Colangelo T, Panza A, *et al.* Deregulated expression of cryptochrome genes in human colorectal cancer [J]. *Mol Cancer*, 2016, 15: 6.
 - [8] 国家卫生健康委员会医政医管局. 脑胶质瘤诊疗规范 (2018 年版)[J]. *中华神经外科杂志*, 2019, 35(3): 217-239.
 - [9] 代从新, 王 裕, 马文斌. 中央区胶质瘤的手术治疗进展 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(35): 2797-2800.
 - [10] 赛 克, 陈忠平. 胶质瘤的疗效评价[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2016, 21(6): 321-322.
 - [11] 李成婧, 吴晓明. 神经胶质瘤对替莫唑胺耐药机制的研究 [J]. *当代医药论丛*, 2019, 17(7): 51-52.
 - [12] Dong Z, Zhang G, Qu M, *et al.* Targeting glioblastoma stem cells through disruption of the circadian clock [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(11): 1556-1573.
 - [13] Chiou YY, Yang Y, Rashid N, *et al.* Mammalian period represses and de-represses transcription by displacing CLOCK- BMAL1 from promoters in a Cryptochrome-dependent manner [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(41): E6072-E6079.
 - [14] Madden MH, Anic GM, Thompson RC, *et al.* Circadian pathway genes in relation to glioma risk and outcome [J]. *Cancer Causes Control*, 2014, 25(1): 25-32.
 - [15] 夏鹤春, 牛占锋, 郝少才, 等. 脑胶质瘤中生物钟基因 Per1 和 Per2 的表达及意义[J]. *山东医药*, 2008, 48: 46-47.
 - [16] 牛占锋, 郝少才, 夏鹤春, 等. 脑胶质瘤组织中 Per1 和 Per2 的表达及临床意义[J]. *宁夏医学杂志*, 2008, 30(6): 481-482.
 - [17] Fu L, Pelicano H, Liu J, *et al.* The circadian gene Period2 plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo [J]. *Cell*, 2002, 111(1): 41-50.
 - [18] Pluquet O, Dejeans N, Boucheccareilh M, *et al.* Posttranscriptional regulation of PER1 underlies the oncogenic function of IRE α [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(15): 4732-4743.
 - [19] Luo Y, Wang F, Chen LA, *et al.* Deregulated expression of cry1 and cry2 in human gliomas [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(11): 5725-5728.
 - [20] Lee JW, Hirota T, Kumar A, *et al.* Development of small-molecule cryptochrome stabilizer derivatives as modulators of the circadian clock [J]. *Chem Med Chem*, 2015, 10(9): 1489-1497.
 - [21] Nangle S, Xing W, Zheng N. Crystal structure of mammalian cryptochrome in complex with a small molecule competitor of its ubiquitin ligase [J]. *Cell Res*, 2013, 23(12): 1417-1419.
 - [22] Mokros Ł, Karbownik MS, Nowakowska-Domagała K, *et al.* Haloperidol, but not olanzapine, may affect expression of PER1 and CRY1 genes in human glioblastoma cell line [J]. *Biol Rhythm Res*, 2016, 47(6): 865-871.
 - [23] Chen Z, Liu P, Li C, *et al.* Deregulated expression of the clock genes in gliomas [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2013, 12(1): 91-97.
 - [24] 陈晓巍, 王 凡, 陈治军, 等. clock 基因在脑胶质瘤组织中的表达变化[J]. *山东医药*, 2013, 53(10): 4-6.
 - [25] Wang F, Li C, Yong L, *et al.* The circadian gene clock plays an important role in cell apoptosis and the DNA damage response in vitro [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2016, 15(3): 480-486.
 - [26] Li A, Lin X, Tan X, *et al.* Circadian gene Clock contributes to cell proliferation and migration of glioma and is directly regulated by tumor-suppressive miR-124 [J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(15): 2455-2460.
 - [27] Kriebs A, Jordan SD, Soto E, *et al.* Circadian repressors CRY1 and CRY2 broadly interact with nuclear receptors and modulate transcriptional activity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(33): 8776-8781.
 - [28] Jung CH, Kim EM, Park JK, *et al.* Bmal1 suppresses cancer cell invasion by blocking the phosphoinositide 3-kinase-Akt-MMP-2 signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(6): 2109-2113.
 - [29] 韩 硕. 基于胶质瘤分子分型的靶向治疗[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2018, 45(1): 83-86.
 - [30] Anisimov VN. Light pollution, reproductive function and cancer risk [J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2006, 27(1-2): 35-52.
 - [31] Zhang L, Yang H, Zhang W, *et al.* Clk1-regulated aerobic glycolysis is involved in glioma chemoresistance [J]. *J Neurochem*, 2017, 142(4): 574-588.

(2019-12-05 收稿, 2019-12-20 修回)